

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

⑨ 日本国特許庁 (JP)
⑩ 公開特許公報 (A)

⑪ 特許出願公開

昭58—38217

⑫ Int. Cl.³
A 61 K 35/14
37/04
37/12
37/22
37/475
37/547
37/64

識別記号

庁内整理番号
7138—4C
7138—4C
7138—4C
7138—4C
7138—4C
7138—4C
7138—4C

⑬ 公開 昭和58年(1983)3月5日

発明の数 5
審査請求 未請求

(全 9 頁)

⑭ 濃縮された血漿誘導体

⑮ 特 願 昭57—83356

⑯ 出 願 昭57(1982)5月19日

優先権主張 ⑰ 1981年6月25日 ⑱ 西ドイツ
(DE) ⑲ P3124962.0

⑳ 1981年12月18日 ㉑ 欧州特許機
構(E.P.) ㉒ 81110616.0

㉓ 発 明 者 ミカエル・ストロートマン

㉔ 出 願 人 セラファラム・ミカエル・スト
ロートマン

西ドイツ国4400ミュンスター・
カイザー・ウィルヘルム・リン
グ36番地

㉕ 代 理 人 弁理士 三宅正夫 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

濃縮された血漿誘導体

2. 特許請求の範囲

(1) 止血の促進と傷の閉塞の最適制御のための生
化学的基質の形をもち、組成が体内及び／又は体
外の凝血システムの最適活性化並びに多様な生理
学的且、もし適用可能ならば、病理学的観点から
選択され、且つその成分がすべて粉末状であり、
且つスプレーとして製剤されたる如き濃縮血漿誘
導体。

(2) 主たる構成要素がフィブリノーゲン、トロン
ビン、プロトロンビン複合体の諸成分及びプロテ
アーゼ抑制剤を含むことを特徴とする特許請求の
範囲第(1)項に記載の血漿誘導体。

(3) 血小板抽出物、抗生物質其他同様のものの混
合物をさらに含むことを特徴とする特許請求の範
囲第(1)項または第(2)項に記載の血漿誘導体。

(4) トロンビン及び纖維素溶解抑制剤を含む人の
血漿誘導体を基質とする傷口閉塞被覆促進のため

の濃縮血漿誘導体にして、噴射剤として使用され
る低沸点無水溶液中に、

15～60 wt%のトロンビン；

5～80 wt%の乾燥安定剤即ち

アルブミン、グロブリン及び／又はフィブ
リノーゲン、ならびに

1～10 wt%の纖維素溶解抑制剤（夫々粉末
の総重量に対して計算）

を懸濁し、

傷口の閉塞と被覆のため、この懸濁物のスプレー
噴射が創傷に向けて噴射される間に溶剤が蒸発し、
その結果実質的に乾燥した固体粉末の混合物のみ
が傷口に達することを特徴とする濃縮血漿誘導体。

(5) トロンビンの一部がプロトロンビンで置きか
えられたることを特徴とする特許請求の範囲第(4)
項に記載の血漿誘導体。

(6) 粉末状混合物が5～40 wt%のプロトロンビ
ンを含むことを特徴とする特許請求の範囲第(5)項
に記載の血漿誘導体。

(7) 粉末状混合物が追加的に2～24 wt%の粉末

状水溶性コラーゲンを含むことを特徴とする特許請求の範囲第(4)乃至(8)項に記載の血漿誘導体。

(8) 粉末状混合物がさらに0.2~2 wt%の血小板抽出物を含むことを特徴とする特許請求の範囲第(4)乃至(7)項に記載の血漿誘導体。

(9) 粉末状混合物が、

20~50 wt%のトロンビン

5~40 wt%のプロトロンビン

8~70 wt%のアルブミン、グロブリン及び／又はフィブリノーゲン

3~12 wt%の水溶性コラーゲン

0.5~1.2 wt%の血小板抽出物および

2~6 wt%の繊維素溶解抑制剤

より成ることを特徴とする特許請求の範囲第(4)乃至(8)項に記載の血漿誘導体。

04 粉末混合物がその1g当たり1乃至10単位の第Ⅷ因子及び／又は第Ⅸ因子をさらに含むことを特徴とする特許請求の範囲第(4)乃至(8)項に記載の血漿誘導体。

05 粉末状混合物が殺菌剤及び／又はペニシリン、

オーレオマイシン、ストレプトマイシン等の抗生物質をさらに含むことを特徴とする特許請求の範囲第(4)乃至(8)項に記載の血漿誘導体。

02 粉末混合物が0.1 μm から5 μm の間の平均粒径をもつことを特徴とする特許請求の範囲第(4)乃至(8)項に記載の血漿誘導体。

03 噴射剤として使用される溶媒が大気圧下(100 kpa) 10℃以下で沸騰することを特徴とする特許請求の範囲第(4)乃至(8)項に記載の血漿誘導体。

04 噴射剤として使用される溶媒が脂肪族ハロゲン化炭化水素であることを特徴とする特許請求の範囲第(4)乃至(8)項に記載の血漿誘導体。

09 脂肪族ハロゲン化炭化水素がテトラフルオロクロロエタン($\text{C}_2\text{F}_5\text{Cl}_2$)又はジフルオロクロロメタン(CF_3Cl)であることを特徴とする特許請求の範囲第(4)項に記載の血漿誘導体。

3. 発明の詳細な説明

本発明は止血促進並びに傷口閉塞の最適制御のための生化学的素質の形をとる繊維血漿誘導体に

関するものである。

特に、本発明はトロンビン及び繊維素(フィブリン)溶解抑制剤を含む人の血漿誘導体を用いた傷の閉塞被覆のための血漿誘導体に関するものである。

血液凝固システムの働きは、或種の血漿成分等に溶解したフィブリノーゲンから不溶のフィブリンを形成し、之を傷口に沈着せしめ之によつて出血を化学的機械的に閉止することである。この止血の過程に於てフィブリンは機械的に抵抗力のある組織及び血管の傷の閉塞を形成する。他方、繊維素溶解システム及び凝血システムの成分と共にフィブリンは組織の損傷の細胞レベルの「修復」の基礎を与える。

過去10年に於ける研究の結果が示している様に、傷の閉止の生化学的制御は多様の反応、逆反応を含む多段階の複雑過程であつて、そこでは凝血因子の統合的制御が行われる。之までこうした凝血因子としては、13種のものが知られている。凝血作用そのものは血管内で内皮の覆けを借

りて行われる。又血小板の諸要素も特に重要である。

凝血作用機構の分析的解明凝血作用に關与する諸因子諸物質の単離、適当な補助材料の使用、適当な使用方法の開発により、医学的な創傷の治療に於て、止血の促進と傷口閉止の最適制御の手がかりが与えられて来た。

特に、人の血漿から或種の成分を分離し、之を製剤として貯蔵して必要に応じて之をフィブリンの形成と交絡凝集のため必要な他の物質と共に傷口に適用し、止血作用の制御を行うことが可能となつて来ている。

こうした技術の中で、この種の典型的なシステムとしては「フィブリン接着剤」というシステムが知られている。この方法では、まずフィブリン溶液を適用すべき組織部位に与える。次いで高濃度のトロンビンと第XIII因子溶液をその上に少量滴下して凝固させる。更に余り早期の繊維素溶解を防止し、当該組織部位の早期の裂開を防ぐため局部的に繊維素溶解抑制剤を加える。この

方法はしかし多大の出費が伴い、且つ上述の諸物質を別々に調製し、貯蔵し、適用するため甚だ複雑である。且つ止血の促進と最速傷口閉塞という広い目的のために使用しうる方法は極めて限られている(フィブリノーゲン、トロンビン第XIII因子繊維素溶解抑制剤)。

実際には冷凍したフィブリノーゲン溶液を融かし、トロンビンと塩化カルシウムを加え、混合物をその粘度の増大によつて重合反応が始まつたことが確認されるまでしばらく放置しておき、反応が始まつてから反応混合物を接合すべき組織部分に適用する。多くの場合使用に適する「フィブリン接着剤」の調製するための費用及び調製すみの製剤の寿命が短いため、本法の使用には不便が伴う。例えば、開業医等にとつては使用に適した未だ液状を保っている製剤の使用可能期間を判断するのは困難なため、本法の実施には困難が伴う。直ちに使用可能な「フィブリン接着剤」の使用適期が短いことは不便であつて、特に激しく流血している傷を広く覆う必要のある時、或は、体内の

凹部で接近が困難な部位の傷等の処置が必要な場合には余計に困難である。

こういった観点から本発明の目的とする処は、傷の閉塞と被覆を授ける濃縮血漿誘導体であつて、室温で殆ど無限の貯蔵安定性を持ち、且つ他の成分を加える必要なく、直接創傷又は手術部位に夫々適用することが出来、特に接近の困難な身体凹部に使用し且つ又は激しく出血する傷を広く覆う場合非常に有利な濃縮血漿誘導体を与えることである。

本発明によればこの目的は生化学的基質の形をもちその組成が体内外の凝血システムの最適活性化と多くの生理学的或は時には病理学的観点から選択され、且つすべての成分が粉末状でスプレーの剤型をもつ止血促進傷口閉塞の最速制御のための濃縮血漿誘導体を使用することによつて達成される。固ましくは、粉末状の血漿誘導体の主たる成分としてフィブリノーゲン、トロンビン、プロトロンビン複合体の諸成分及びプロテアーゼ抑制剤を含むのが良い。又追加的に血小板抽出物、抗生

物質其他同様の物質を之に加えてもよい。

特に本発明は上述の目的の達成のため、傷口閉塞及び被覆のための濃縮血漿誘導体であつて、トロンビン及び繊維素溶解抑制剤を含む人の血漿誘導体を基質とするものを提供するものである。この誘導体は噴射剤として使用される低沸点の無水溶媒中に15~60 wt%のトロンビン、5~80 wt%の乾燥安定剤即ちアルブミン、グロブリン及び/又はフィブリノーゲン並びに1~10 wt%の繊維素溶解抑制剤(叙上のパーセンテージは夫々粉末状混合物の全重量に対して計算されたもの)を含む粉末状の混合物を懸濁し、この懸濁物を溶媒を蒸発せしめつゝ創傷部位に噴射して実質的に乾燥した固体粉末状の混合物のみが創傷部位に遺する様に調製させている。

本発明の有利な実法及びその具体例は、特許請求範囲の従属請求範囲項目中に明らかにされている。之等従属請求範囲項目は就中粉末状混合物への他の添加物例えばプロトロンビン、粉末状コラーゲン、血小板凝縮物、好血性処置のための諸因

子、抗生物質に関連するものであり、又噴射剤として用いる溶媒の選択に関するものである。

之まで一般に使用されて来た「フィブリン接着剤」に比し、本発明は傷口の閉塞と被覆の促進のためには如何なる場合も追加的にフィブリノーゲンをを用いる必要はなく、又一般に可成り敏感であることが知られているトロンビンは微細な乾燥した粉末状の乾燥安定剤と混合し、微細な乾燥した粉末状で貯蔵する時は、その生化学的活性を大して喪失することなく殆ど無限に貯蔵しうるといふ知見に基づいた発明である。粉末状混合物が固体の乾燥した粉末状のフィブリノーゲンを乾燥安定剤として含む時でも、粉末状混合物のすべての成分が固体状であり且水が存在しないため、長期の貯蔵の後でも凝血酵素の活性は大して低下せず又フィブリンの形成もない。

追加的にプロトロンビンを入れると、更に貯蔵安定性は増大し、多少濃度を上げ約40℃以下にたもつ時は特に然りである。しかし他方、組織の閉塞のための生物学的活性の発現及びフィブリン

傷口止血膜への転化はこの乾燥粉末状混合物が部分的に体液中に移行し、体液中に溶解すると、短時間内に始まる。非に早く、例えば、2分経てば止血の促進作用が既に発現される。傷口閉塞の生化学的制御作用は凝血酵素、就中トロンビン及び適用可能ならばプロトロンビンの増加によつて増強され最適化される。纖維素溶解抑制剤の添加は既に形成されたフィブリン凝塊の再溶解を防止する。又血小板因子の添加は、流出する血液の凝固を刺激し、中に含まれている成長因子が傷の治療を最適化に行う。時に添加されるコラーゲンは、フィブリン凝塊を吸収し、傷の閉塞材料の粘着を増加せしめる。

所要の諸因子が乾燥状態で互いに混合される時は、室温で大した活性の喪失もなく貯蔵しうるといふ知見に基き、発明の今一つの面としてこの乾燥粉末状混合物を部分的にも溶解しない様な適当な噴射剤と共にこの粉末状混合物をスプレーし、之によつて接近困難な身体の凹部に本剤を適用し及び／又は激しく出血する傷を広く覆うことが短

時間に可能となることが確認された。この方法のための前提条件としては、貯蔵中この粉末状混合物の諸成分を活性化せしめない様な完全に無水な溶剤を用いることである。例えば「フリーゲン 114」の様な低沸点の噴射剤を使用すると、全噴射剤がスプレー過程で殆ど蒸発し、実質的に乾燥した固体の粉末状混合物のみが傷に達する様にすることが出来る。

この様に本発明は室温で殆ど無限の貯蔵安定性をもち、他の必要な成分を加えることなく傷口や手術部位に直接適用し得、そして、接近困難な身体の凹部に適用し及び／又は激しく出血する創傷を広く覆うのに極めて適した傷口閉塞被覆材料を提供するものである。傷口に到達した固体の乾燥した粉末状混合物は、傷口部位を乾燥せしめ、血液を凝固せしめ、傷の治療を促進する。従つて、本製剤は出血の甚だしい創傷及び／又は慢性的に潰瘍を起している傷の治療に極めて適している。この血友性治療の安定度は第Ⅷ及び／又は第Ⅸ因子を加えることにより更に改善される。

本発明による傷口閉塞被覆材の特に望ましい適用分野は、めくれた皮膚を閉止し、縫合するための整形外科、齒科外科、例えば歯を抜いたあとの孔の閉塞耳、鼻、咽喉科の手術、めくれた皮膚や組織の一部をくつつけて固定するための乳房手術、下腹部での使用、脳内部、其他接近困難な身体の腔部に於ける使用である。

次に本発明を望ましいその具体例について詳述する。

スプレー用噴射剤により噴射される乾燥固体粉末状混合物は、少く共トロンビン、纖維素溶解抑制剤及び乾燥安定剤、即ち、アルブミン、グロブリン及びフィブリンノーゲンから成る一群の血液誘導体のうちの少なく共一つの成分を含まねばならない。

生物活性を有するトロンビンはフィブリン形成の発物質として使用され、流出する血液中のフィブリンノーゲンの変換の反応時間を短縮する働きをする。本明細書では生物活性を有するトロンビンとは、既知の標準的条件下でトロンビン1mg

り少く共1000国際単位の活性を示すトロンビンを言う。之に適した製剤は商業的に販売されている。例えば、パーテン・グレンツアツハのホフマン・ラロッシュ社から「トボスタシン」なる商標で1mg当たり少く共3000単位の生物活性をもつトロンビンが微細結晶の形態で販売されている。

本発明の重要な一面として極めて高いトロンビン濃度が提供される。粉末状混合物に含まれるトロンビンの含有量は、少く共重量で15パーセントである。トロンビン含有量の上限値は乾燥安定剤の効力にもよるが重量で60%までである。トロンビン含有量が20~50%で良い結果が得られている。特に望ましいのは、乾燥粉末状混合物中のトロンビン含有量が重量で約40~45パーセントのものである。

トロンビンの一部はプロトロンビンによつて置きかえられる。凝血酵素トロンビンは感受性が高くその生物活性は長期間の貯蔵と共に減少する。一方プロトロンビンは長期の貯蔵安定性をもつたトロンビンの備蓄となり、湿気が来ると現在ある

トロンビン及び／又は血塊により活性化される。

固体粉末状混合物は重量比でトロンビン1部に対して0.1～2部のトロンビンを含むことができる。望ましくはトロンビン1部に対し重量比でプロトロンビン0.5～0.9部を含むものとする。プロトロンビンの含有量が高いことは便利である。何故ならプロトロンビンは大抵他の凝固酵素其他色んな因子と共に存在し、従つて、プロトロンビンの含有量が多いということは、之等の凝固酵素も多いということ、之が又血液の凝固を促進するからである。従つて、プロトロンビンの含有量は重量比で5～40パーセントに達してよく望ましくは、20～35パーセントであるのが良い。

プロトロンビンは市販のプロトロンビン複合体から分離しても又は硫酸バリウムで血漿から抽出し、結晶沈殿物から回収してもよい。又プロトロンビンは商業的にも販売されている。例えば、ウィーンのインミュノ株式会社は「PP8B」製剤という名で出している、其他体液中に入ると少く共その95パーセントがトロンビンへ変換する様

なプロトロンビン製剤なら充分使用に適する。

今一つの必要成分として乾燥固体粉末状混合物は重量比で1乃至10パーセント望ましくは2乃至6パーセントの繊維素溶解抑制剤を含むものとする。之に適する繊維素溶解抑制剤は既に知られている。望ましくは1乃至数種の抗プラスミンが繊維素溶解抑制剤として使用されるのが良く、これに適した抗プラスミンとしては、例えば、アプロテニン、 α_1 -抗プラスミン及び／又はトリプシン抑制剤がある。 α_1 -抗プラスミンと α_1 -巨大グロブリンの1:1混合物も使用に適する。かゝる抗プラスミンの添加によつて既に形成されたフィブリン凝塊の再溶解を防ぐことが出来る。使用に適する α_1 -抗プラスミンを得る方法の一例を示せば、まづ、フィブリノーゲンを「セファロース」に共有結合せしめトロンビンによつてフィブリンへ変換させる、かくして不活性となつたフィブリンは血漿中の抗プラスミンの受容体として働き、カラムを血漿が通過する間に抗プラスミンは結合を起す、これは、 α -アミノカプロン酸によつて洗

離し得る。

又乾燥した固体粉末状の混合物は少く共一種の乾燥安定剤を含む。この乾燥安定剤の働きで固体トロンビンが噴射剤の存在下でその活性を失うことなく、貯蔵安定性をもち、又スプレー可能となるのである。乾燥安定剤としては、血漿誘導体の少く共一種即ちアルブミン又はグロブリン又はフィブリノーゲンを用いることが出来る。既知の方法と違つて、本発明の方法では傷口の閉塞及び被覆材料として必ずしもフィブリノーゲンを含む必要はない。何故なら充分な止血、傷口閉塞効果が既に高濃度のトロンビンの存在により保証されており、更にある場合にはプロトロンビンの共存によつてその効果が更に増大しているからである。例えば、本発明によつて提供される上述の血漿誘導体から成る材料はアルブミンのみを含んでもよく、この場合このアルブミンは乾燥安定剤として働き、固体粉末状トロンビンの貯蔵安定性、生物活性及びスプレー散布の可能性を保証する。かゝる固体の微細結晶状のアルブミンは市販されており、例

えば、マルブルグのベーリング・グエルケ社から入手することが出来る。

或は血漿誘導体としてはグロブリンのみを提供することも出来る。望ましくは市販されている α -, β -, γ -グロブリンの混合物を使用するのが良い。例えばマンハイムのベーリング・社によつて販売されているがごときものである。

或は乾燥安定剤として考慮の対象となりうるのは人間の血漿からとつたフィブリノーゲンである。之も使用に適した製剤が市販されている。例えばマルブルグのベーリング・グエルケのものである。

或は充分使用に適するフィブリノーゲンが人間の血漿からグリン、 β -アラニン及びエタノールを含む混合溶剤で抽出し次いで沈殿物を透析・凍結乾燥することによつて得られる。こうして得られた微細結晶のフィブリノーゲンは、分子量が340,000 \pm 5%で α -鎖は僅かに部分的に消化されており、体液中に入ると急速に溶解し、溶液中の凝塊性フィブリノーゲンは少く共8.5%存在し、其後直ちに、即ち、2分以内に重合をはじめぬ。

重量比でかゝるフィブリノーゲン10部中に、冷時不溶グロブリンが0.1部以下含まれるものとする。冷時不溶グロブリンの存在量が少い程より速くフィブリン重合が起ることが知られている。フィブリノーゲンはトロンビンの乾燥安定剤として使用されるだけでなく、創傷の周囲にフィブリノーゲンをより多く供給せんがために使用されるのでこのため冷時不溶グロブリンが無いことが望ましいわけである。

乾燥安定剤の成分は唯一種とするのではなく、蛋白、グロブリン、フィブリノーゲンの中2つ又はそれ以上の混合物とすることも出来る。

例えば、アルブミンとフィブリノーゲンの混合物を使用して満足な結果が得られている。

アルブミン、グロブリン及び／又はフィブリノーゲンの総量は、乾燥固体粉末状混合物の重量の5～80パーセントとする。

望ましくは重量で8～70パーセントが良い。

又固体粉末状混合物は固体粉末状水溶性コラーゲンを含んでもよい。之に適したコラーゲン

は臓や皮膚から得られその平均分子量は約300～500万である。粉末状コラーゲンは少く共水に90%溶ける。

粉末状混合物の一構成成分として傷口に吹きつけられるコラーゲンは液を吸収し、流出する血液と共に運ばれる血小板を活性化し凝血を促進する。更にコラーゲンは傷口周辺に於ける粘度の上昇に貢献し、組織に傷口閉塞物質が附着するのを援ける。本発明の望ましい具体例によれば、固体粉末状の混合物は追加的要素としてコラーゲンを含む。この際コラーゲンの量はあまり厳格に決める必要はないが、粉体総重量の約2～24パーセント位が良い。

粉末混合物がコラーゲンを含む時は、乾燥安定剤、即ち、アルブミン、グロブリン及び／又はフィブリノーゲンといった血漿誘導体の量は減らしてよい。この場合コラーゲンが重量で約3～12パーセント、アルブミン、グロブリン及び／又はフィブリノーゲンの総量が重量で8～70パーセントという割合で良い結果が得られている。

又固体粉末状混合物は血小板抽出物を追加的に含んでもよい。血小板は血液の細胞成分の構成成分であり、赤血球から遠心分離により、「軟膜」として分離される。この細胞成分はサツカリン溶液で洗滌すると未だ混つて存在している赤血球から分離することが出来る。細胞膜は適当な細胞溶解により分離し、遠心分離により細胞液から分離する。血小板の細胞膜は磷脂質-蛋白質構造物質を含み、之等の物質は体内の凝血機構を活性化して凝血に参与する酵素を方向づける働きをする。膜の粒子を乾燥せしめ、均質化し、抽出して製品が得られるが之は生理学的状態下で溶解性があり反応性をもつ。

血小板の抽出物は活性が高いので、少量で充分である。例えば粉末状混合物の重量の約0.8～2パーセントでよい。望ましくは、血小板抽出物の量が重量で全体の0.5～1.2パーセントであるのが良い。

例示すれば、血小板抽出物は次の として得られる。

人の全血から得た沈渣である「軟膜」をセイヤ溶液（グルコースと塩の混合物）で徹底的に洗い赤血球を分離する。こうして得た白血球-単核細胞-血小板製剤をトライトンを加えて溶解し、不溶の部分を遠心分離でとり取り、上澄液を確定でpH 7.4で分別沈澱せしめる。沈澱物を遠心分離でとり取り透析し、乾燥する。得られた成分の磷脂質含有量は約16～25パーセントである。

トロンボプラスミンテストで試験すると、本製剤は凝固活性があることが判る。成長増大は培養基中のフィブロブラストの増大によつて検知しうる。

上に述べた粉末混合物の所要の成は随時加えられる諸成分に加え、本混合物は更に凝血効果があり創傷の治癒に影響する既知の因子及び物質を含むことが出来る。但し、すべて固体粉末状の剤型によるものとする。又固体粉末状混合物は、殺菌剤及び／又は抗生物質を加えてもよく、且／又は或種の病的状態と闘うために有効な他の添加物を入れてもよい。

之等の添加物としては就中、例えば、ペニシリン、オーレオマイシン、ストレプトマイシン等であり、或は又抗ヒスタミン、グアソプレシン等であり或は血友の創傷治療のための第Ⅷ及び／又は第Ⅸ凝血因子等である。

上述の抗生物質の割合は粉末状混合物1g当たり10,000~50,000単位の量として良い。又凝血因子Ⅷ及び／又はⅨの量は粉末状混合物1g当たり約1~10単位の量でよい。血友治療に重要な第Ⅷ及び／又は第Ⅸ因子の存在は傷口の閉塞に効果があるだけでなく、体内の血液の活性を高めて傷口の閉塞を促進する効果がある。又凝血因子の活性化を促進する塩類、例えば、塩化カルシウム CaCl_2 等も添加してよい。

本発明の望ましい具体例に於ては、スプレーすべき固体粉末状混合物として次の様な構成をもつ混合物を用いる（以下に記すパーセンテージは粉末状混合物の全重量に対する百分率である）。

20~50wt% のトロロンピン

5~40wt% のプロトロンピン

8~70wt% のアルブミン、グロブリン及び／又はフィブリノーゲン

2~6 wt% の纖維素溶解抑制剤

3~12wt% の水溶性コラーゲン

0.5~1.2wt% の血小板抽出物

更に粉末状混合物は次のものを含んでいてよい。

粉末混合物1g当たり10,000~50,000

単位の抗生物質

粉末混合物1g当たり1~10単位の第Ⅷ及び／又は第Ⅸ要素

上記の製剤はすべて室温及び56℃までは固体であり、実質的に微細結晶性である。

固体粉末状混合物は之等の構成成分から簡単な乾燥混合法により得ることが出来る。例えば、ボールミル中で10分間混合する。或は混合を超音波処理と調による分別によつて行つてもよい。何れの場合でも乾燥した自由に流れる粉末が構成成分の均一な混合物から得られる。

良好なスプレー可能性を確保するため粉末混合物の平均粒径は望ましくは約0.1 μm から約5 μm

とする。より微細な粉末の場合は固まつたり詰つたりする危険性がある。又粒径が粗すぎるとスプレーがうまく出来ず、又その体液中への溶解に時間がかかる。之まで使用されているスプレーノズル例えば径5 μm のものをを使う場合は粉末粒径は平均約0.5~2 μm で好結果が得られている。

この場合、粉末の平均粒径約1~1.5 μm であることが特に望ましい。この粒径を得るため粉末をひいて充分な細かさの粒とし、之を篩で分別して最終製品とする。

スプレーの可能な傷の閉塞被覆材料をうるため、上に述べた成分の固体粉末状混合物を噴射剤として用いる低沸点無水溶媒中に懸濁する。溶媒はスプレーノズルを出ると傷の表面に達するまでに完全に蒸発してしまふ極適当な低沸点溶媒を用いる。たとえ使用する溶媒が生理学的に不活性で無害なものである時でも、スプレーした時、実質的に乾燥した固体粉末状混合物のみが傷に到達し、溶媒はたとえ傷口に到達してもその影響を現わす抽出限界レベルより低い様にする。溶媒が急速に蒸発

することを確実にするため、溶媒の沸点は大気圧（約100KPa）下で10℃以下とする。本発明による目的のため適した溶媒で圧力が増大した時のみ、室温で液体である様な溶媒としては、特定のハロゲン化炭化水素、又はかかる炭化水素の共沸混合物、即ち、技術用語で「フリーゲン」として知られているものがある。例えば、「フリーゲン114」（四弗化二塩化エチレン $\text{C}_2\text{F}_6\text{Cl}_2$ 沸点41℃）又は「フリーゲン13」（塩化三弗化メタン CF_3Cl 沸点-81.4℃）又は「フリーゲン12」（二弗化二塩化メタン CF_2Cl_2 沸点-30.0℃）等が非常に適当である。噴射剤として以上の様なフリーゲンをを用いる時は、重量比が粉末状混合物1部に對し3~6部の量とするのが望ましい。其他噴射剤としては、例えば、液化炭酸ガス、液体酸素、液化メタン、液化笑気ガス（ N_2O ）等も考慮することが出来る。場合により、有機溶媒で沸点の低いもの、混合物、例えば、アセトン／アルコール混合物、アセトン／エーテル混合物（例えば、アセトン8容量部に對しエーテル2容量部）を用い

ることも出来る。

之等成分の夫々の蒸気圧に加え、低沸点有機溶媒をより都合よくスプレーするため容器の内容量を機械的に小さくすることによつて、之を授けることが出来る。例えば機械的又はパネ式の圧力プランジャーを用いるとか空気圧で作動する隔膜を用いる等である。

噴射剤として用いる低沸点溶媒は無水とすることが重要であつて、信頼性をもつて凝集酵素や多分存在するであろう肝臓中のフィブリノーゲンを活性化しない様にする必要がある。フリーゲンはそのメーカーが水分10ppm/ℓ (= 0.001%)を超えないことを保証しているが、この発明の目的では之で充分であり、それ以外に追加的な乾燥方法は要らない。

次の表は傷の閉塞と被覆を助けるための凝縮血漿導体の組成の例を示したものである。

表

実 施 例	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
成分 (%)	30	48	40	25	35	45	50	20
トロンビン			30	35	25	15	34.5	5.8
フィブリノーゲン	25		25	15	25.4			30
フィブリノゲン	20	30		5		29.2		15
フィブリン	20	20		5			10	10
コラーゲン				10	5	7	3	12
血小管抽出物				1	0.6	0.8	0.5	1.2
凝縮血漿導体均質剤 [*]	5	2	5	4	5	3	2	6
噴 射 剤 (%)	400	500	600	350	400	500	400	500
フリーゲン114								
フリーゲン12								
フリーゲン13								

*) 上記すべての例に使用されている凝縮血漿導体均質剤は、レバークーゼンのバイヤー社の「トラスコール」である。

上記実施例I乃至VIIIによる粉末状の凝固活性を有する物質を凡そ10乃至30mmの距離から噴霧すると、傷の表面に白い薄い膜が出来るが、この膜は直ぐ沈出する血液によつて溶かされる、そして二、三分後にはスプレーをかけた傷の表面は閉塞され血液の凝固によつて閉じられる。

実施例Vに於て使用される粉末状混合物に関しては、トロンビンの活性フィブリンの結合性及び凝集作用をテストし次の結果を得た。

実施例Vによる乾燥した粉末状の混合物を0.9%の食塩水1ml当たり0.5mmの濃度で溶かす。この溶液100μlを色原体基質(ストックホルムのカピトラム社のS2222)の標準溶液を用いてテストした終末点分析に於いて405nmに於ける吸光増加は少く共0.001国際単位のトロンビン活性に相当した。本システムは既知のトロンビン量によつて検量目盛をつけてあるので、その間に存在

する量の値を決定することは簡単に出来る。

本実施例では0.0025 ~ 0.003単位まで測定することが出来た。こゝで「単位」というのは、1mlの標準フィブリノーゲン溶液を15秒以内に凝固せしめる能力を言う。

フィブリンの結合性のテスト

トロンビンによつて形成されるフィブリン凝塊を直ちに徹底的に0.9%食塩水で洗い、次いで0.1%のモノクロム酸中に溶かした。

280nmに於ける吸光値を参考値として用いた。本製剤から一定の時間々隔で次々に採取した凝塊はより溶解性が少なかつた。その吸光値をゼロ値と比較した。37℃で30分後形成されたフィブリンは最早特定の溶媒中には検出出来なかつた。

凝縮血漿導体の凝固作用のテスト

実施例Vによる乾燥粉末状混合物を10mmづつ分取し、5mmのCaCl₂を含む0.9%食塩水の中に攪拌下に溶かした。本溶液の凝固活性をフィブリ

ン形成速度によつて決定した。この目的のためサンプルは一定の時間々隔を置いて採取し、フィブリンノーゲンとフィブリンオリゴマーの比率について電気泳動法により調べた。所与の条件下では凝固時間は70~90秒でフィブリンノーゲンの35%がフィブリンモノマーに変つた。製剤に含まれていた第XIII因子によるフィブリン繊維のからまりは、30分以内に終結した。それ以後は本剤は最早や0.1%モノクロル酢酸に溶かすことは出来なかつた。

組織を閉塞する生物学的作用並びに傷口の止血と根拠を行ひフィブリンへの変換は、乾燥粉末状血漿誘導体が部分的に体液中に移行し、体液中に溶解すると始まる。既に短時間で、例えば、2分後には止血促進作用が発現する。傷口閉塞の生化学的制御はトロンビン繊維素溶解抑制剤の増加により増加し、又最適化される。

血小板誘因子の添加は凝出する血液の凝固をはやめ、又そこに含まれる成長因子は傷の治療を最適化する。

出血しつつある傷口には凝固性物質が出てくるが、流血の早さのため傷口から流失してしまう。凝固性の乾燥粉末は局部的にこの凝固性を高め、液を吸収し、血小板の粘着を促進する。傷口で露出したコラーゲンはフィブリンの凝塊を吸収し、傷口閉塞物質の粘着を増加せしめる。

本剤は乾燥状態で使用されるので、特別な貯蔵法や適用後トロンビンと混合することは不要である。スプレー形成の剤型は皮膚のはがれの閉塞、手術縫合糸の保護滲出血の防止を特に容易にする。

代 理 人 三 宅 正 夫

他 1 名